

线粒体解偶联蛋白2在大鼠实验性牙周炎相关肾损伤中的作用研究

李琼¹ 马浩楠¹ 商雅琦¹ 辛禧瑞¹ 刘歆婵² 武洲³ 于维先^{4,5}

1. 吉林大学口腔医院牙周病科, 长春 130021;

2. 吉林大学口腔医院种植科, 长春 130021;

3. 日本九州大学齿学研究院, 日本福岡 812-8582;

4. 吉林大学口腔医院老年口腔科, 长春 130021;

5. 吉林省牙发育及颌骨重塑与再生重点实验室, 长春 130021

[摘要] **目的** 探索线粒体解偶联蛋白2 (UCP2) 在结扎诱导的实验性牙周炎相关肾损伤中的变化, 研究UCP2对牙周炎诱导肾损伤的影响。**方法** 选取12只Wistar雄性大鼠随机分为2组: 对照组和牙周炎组。使用0.2 mm正畸结扎丝结扎在大鼠上颌第一磨牙的牙颈部, 建立牙周炎模型。8周后观察2组大鼠口内情况, 检测牙周临床指标牙龈出血指数 (BI)、牙周探诊深度 (PD)、牙齿松动度 (TM)。收集大鼠上颌骨并扫描Micro CT, 观察牙槽骨吸收情况, 记录组织矿物质密度 (TMD)、骨矿物质密度 (BMD)、骨体积分数 (BV/TV)、骨小梁厚度 (Tb.Th)、骨小梁骨分离度 (Tb.Sp) 等参数, 测量上颌第一磨牙釉牙骨质界到牙槽嵴顶的距离 (CEJ-ABC)。冻存大鼠肾组织以检测氧化应激指标丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH)、超氧化物歧化酶 (SOD), 并进行实时定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 观察UCP2、核因子红系2相关因子2 (Nrf2) 抗体、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α) 基因表达情况。使用大鼠牙龈组织进行免疫组织化学染色, 观察牙龈组织UCP2表达情况。使用大鼠固定的肾组织进行苏木精-伊红 (HE)、过碘酸雪夫 (PAS)、MitoSOX Red、JC-1、免疫组织化学染色, 观察大鼠肾组织病理学表现、活性氧 (ROS) 水平、线粒体膜电位水平及UCP2、Nrf2、PGC-1 α 蛋白表达情况。收集大鼠血清检测肾脏功能指标血尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cre)、白蛋白 (Alb) 的表达。**结果** 相较于对照组, 牙周炎组大鼠第一磨牙周围的牙龈组织发红肿胀, 质地松软, 临床检查探诊出血且PD增加, 牙齿松动, 牙槽骨吸收, TMD、BMD、BV/TV、Tb.Th指数降低, Tb.Sp指数及CEJ-ABC增加, 牙龈UCP2蛋白表达升高。相较于对照组, 牙周炎组大鼠肾组织内MDA、ROS水平上升, MMP、GSH和SOD水平下降, UCP2基因及蛋白表达升高, Nrf2、PGC-1 α 基因及蛋白表达下降。肾脏功能指标BUN、Cre、Alb两组差异无统计学意义。**结论** UCP2可通过氧化应激在牙周炎诱导的肾损伤中发挥作用。

[关键词] 牙周炎; 肾损伤; 线粒体解偶联蛋白2

[中图分类号] R781.4 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2024.2023378



本文链接 开放科学标识码

The role of uncoupling protein 2 in experimental periodontitis-associated renal injury in rats

Li Qiong¹, Ma Haonan¹, Shang Yaqi¹, Xin Xirui¹, Liu Xinchuan², Wu Zhou³, Yu Weixian^{4,5}

1. Dept. of Periodontology, Hospital of Stomatology, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Dept. of Implantology, Hospital of Stomatology, Jilin University, Changchun 130021, China; 3. Institute of Dentistry, Kyushu University, Fukuoka

812-8582, Japan; 4. Dept. of Geriatrics, Hospital of Stomatology, Jilin University, Changchun 130021, China; 5. Jilin Provincial Key Laboratory of Tooth Development and Bone Remodeling, Changchun 130021, China

Supported by: International Cooperation Project of Sci-

[收稿日期] 2023-11-10; **[修回日期]** 2024-02-17

[基金项目] 吉林省科技厅国际合作项目 (20220402069GH)

[作者简介] 李琼, 住院医师, 硕士, E-mail: liqiong21@mails.jlu.edu.cn

[通信作者] 于维先, 教授, 博士, E-mail: ywx@jlu.edu.cn

ence and Technology Department of Jilin Province (20220402069GH)

Correspondence: Yu Weixian, E-mail: ywx@jlu.edu.cn

[Abstract] Objective This study aims to explore changes in uncoupling protein 2 (UCP2) in experimental periodontitis-associated renal injury induced by ligation and investigate the effect of UCP2 on renal injury induced by periodontitis. **Methods** Twelve Wistar male rats were randomly divided into two groups: control and periodontitis groups. A periodontal model was built by ligating the maxillary first molars area with 0.2 mm orthodontic ligature wire. After 8 weeks, the intraoral condition of the rats was observed and periodontal clinical indices such as gingival bleeding index (BI), periodontal probing depth (PD), and tooth mobility (TM) were detected. The maxillary bone was scanned by Micro CT to observe the alveolar bone resorption. The tissue mineral density (TMD), bone mineral density (BMD), bone volume fraction (BV/TV), trabecular thickness (Tb.Th), trabecular bone separation (Tb.Sp) were recorded, and the distance from the enamel bone boundary to the alveolar crest (CEJ-ABC) of the maxillary first molar was measured. The oxidative stress indexes such as malondialdehyde, glutathione (GSH), and superoxide dismutase (SOD) were detected using frozen rat kidney tissue. The gene expression of UCP2, nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α (PGC-1 α) was observed by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) test. The gingival tissue of the rats was used for immunohistochemical staining to observe the expression of the UCP2 protein. The fixed rat kidney tissue was used for hematoxylin-eosin (HE), periodic acid-schiff (PAS), MitoSOX Red, JC-1, and immunohistochemical staining to observe the renal histopathology, the level of reactive oxygen species (ROS), the level of mitochondrial membrane potential, and the expression of UCP2, Nrf2, and PGC-1 α protein. Rat serum was collected to detect renal function indices, namely, blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cre), and albumin (Alb). **Results** Compared with the control group, the periodontitis group showed red, swollen, and soft gingival tissue, with gingival probing bleeding, periodontal PD increased, tooth loosening, alveolar bone resorption, decreased TMD, BMD, BV/TV, and Tb.Th indices, and increased Tb.Sp index, CEJ-ABC, and gingival UCP2 protein expression. Compared with the control group, the levels of MDA and ROS in the kidney tissue of periodontitis rats and the gene and protein expression of UCP2 increased, and the levels of MMP, GSH, and SOD and the gene and protein expression of Nrf2 and PGC-1 α decreased. Renal functional indices, namely, BUN, Cre, and Alb, were not significantly different between the two groups. **Conclusion** UCP2 may play a role in renal injury induced by periodontitis through oxidative stress.

[Key words] periodontitis; renal injury; uncoupling protein 2

牙周炎是一种感染性疾病,会导致牙周支持组织受损,最终导致牙齿脱落^[1]。根据2019年全球疾病负担研究^[2]报告,全球有11亿严重牙周炎流行病例,且1990—2019年严重牙周炎患病率上升了8.44%。研究^[3-6]表明,牙周炎与多种全身性疾病密切相关,如阿尔兹海默症、糖尿病、心血管疾病等。慢性肾病^[7] (chronic kidney disease, CKD)是一个全球性问题,患病率为8%~16%,与牙周炎一样严重危害人类健康。临床研究^[7]发现,在CKD患者中,47.6%患有中度牙周炎,27%患有重度牙周炎。此外,牙周炎合并CKD患者的菌斑指数与牙龈指数要明显高于单纯牙周炎组^[4]。

氧化应激是一个复杂的生物过程,其特征是线粒体活性氧(reactive oxygen species, ROS)过度产生,破坏了机体内氧化还原反应平衡,从而造成组织的氧化损伤^[8]。线粒体解偶联蛋白2(uncoupling protein 2, UCP2)是一种定位于线粒体内

膜的蛋白,可以参与氧化磷酸化解偶联,通过调控质子泄漏抑制线粒体ROS的产生,从而发挥ROS“紧急关闭阀”的作用,因此UCP2与机体的氧化应激状态密切相关^[9-10]。研究^[11]发现,高盐环境增加了肾小管上皮细胞的ROS及UCP2水平,同时氟中毒引发的大鼠实验性肾损伤的肾组织也表现为UCP2蛋白表达上调。然而,UCP2在牙周炎相关肾损伤中发挥的作用仍不清楚,本研究通过动物实验对此进行研究。

1 材料和方法

1.1 动物、试剂和仪器

动物:SPF级雄性Wistar大鼠(辽宁长生生物技术股份有限公司)。

试剂:过碘酸雪夫(periodic acid-schiff, PAS)染色试剂盒(北京酷来搏科技有限公司),

引物及内参(上海生工生物工程股份有限公司), 逆转录试剂盒、实时定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)试剂盒(上海翌圣生物科技股份有限公司), 免疫组织化学试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司), 血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cre)、白蛋白(albumin, Alb)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)试剂盒(南京建成生物工程研究所), 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1, 上海碧云天生物技术有限公司), 线粒体超氧化物检测试剂盒(MitoSOX Red)(Thermo Fisher Science公司, 美国), UCP2抗体(Affinity Bioscience公司, 美国), 核因子红系2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)抗体(武汉塞维尔生物科技有限公司), 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α , PGC-1 α)抗体(上海艾比玛特生物医药科技有限公司)。

仪器: Micro CT (SCANCO Medical AG公司, 瑞士), 酶标仪(Bio Tek公司, 美国), 光学显微镜(Olympus公司, 日本)。

1.2 实验设计

实验已经得到吉林大学动物伦理福利委员会的批准, 伦理号为SY202306049。12只Wistar雄性大鼠, 7周龄, 体重为180~200 g。所有大鼠在进行适应性喂养1周后被随机分为2组: 对照组和牙周炎组, 每组6只。用直径0.2 mm的正畸结扎丝结扎在大鼠上颌第一磨牙的牙颈部以建立大鼠实验性牙周炎模型^[12-15]。每天检查结扎丝是否脱落, 持续8周。8周后, 所有大鼠均给予2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 收集大鼠上颌骨、肾脏组织和血清用于后续实验。

1.3 检查项目及方法

1.3.1 牙周临床检测

8周后, 麻醉下对大鼠牙周组织进行拍照及牙周临床检测^[12-15], 记录牙龈出血指数(bleeding index, BI)、牙周探诊深度(probing depth, PD)、牙齿松动度(tooth mobility, TM)。BI: 0为牙龈健康无炎症及出血; 1为牙龈颜色有炎症性改变, 探诊不出血; 2为探诊后点状出血; 3为探诊后出血沿牙龈缘扩散; 4为探诊后出血溢出龈沟; 5为自动出血。TM: 0为生理动度; 1为颊腭向松动; 2为颊腭及近远中向松动; 3为颊腭、近远中及垂

直向松动。以上均由同一人记录并重复3次。

1.3.2 Micro CT分析

将固定的上颌骨用生理盐水冲洗干净, 并放置于扫描容器内。扫描参数设置为70 kV、200 mA, 经过300 ms后进行三维重建。记录并统计组织矿物质密度(tissue mineral density, TMD)、骨矿物质密度(bone mineral density, BMD)、骨体积分数(bone volume fraction, BV/TV)、骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb.Th)、骨小梁骨分离度(trabecular bone separating degree, Tb.Sp)等参数。使用ImageJ软件分析上颌第一磨牙釉牙骨质界(cement-enamel junction, CEJ)到牙槽嵴顶(alveolar bone crest, ABC)的距离(CEJ-ABC)。

1.3.3 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色及PAS染色

将经过4%多聚甲醛固定后的肾脏组织和脱钙后的大鼠上颌骨进行梯度脱水和包埋处理, 最后制备成5 μ m厚的肾组织和牙周组织切片。HE染色: 将肾组织和牙周组织切片经过二甲苯梯度脱蜡、乙醇梯度水化处理后, 进行苏木素染色, 染色时间为6 min, 接着进行盐酸乙醇分化, 并使用氨水进行返蓝处理, 之后伊红染色3 min, 再用二甲苯梯度脱水后封片拍照。PAS染色: 肾组织切片经梯度脱蜡水化后, 暗盒内氧化剂氧化5 min, Schiff试剂染色10 min, 0.5%偏重亚硫酸钠浸洗, 苏木素染核2 min, 经过盐酸乙醇分化和氨水返蓝后, 将切片进行梯度脱水并封片后进行拍照。

1.3.4 肾脏功能指标检测

按照肾脏功能检测试剂盒说明书的指引进行操作, 收取2组大鼠血清进行检测, 并通过酶标仪测定BUN、Cre、Alb指标^[13-15]。

1.3.5 氧化应激标志物检测

称取等量大鼠冰冻肾组织并溶于等量生理盐水中, 冰上匀浆离心后取上清液, 按照说明书进行检测MDA、GSH、SOD的检测。

1.3.6 MitoSOX Red染色

肾组织石蜡切片梯度脱蜡水化, 置于MitoSOX染液中37 $^{\circ}$ C避光孵育10 min, Hoechst染核5 min, 最后置于荧光显微镜下观察拍照。

1.3.7 JC-1染色

肾组织石蜡切片梯度脱蜡水化, 置于1 mL JC-1工作液37 $^{\circ}$ C避光孵育20 min, JC-1染色缓冲液洗涤2次各3 min, 最后置于荧光显微镜下观察拍照。

1.3.8 qRT-PCR 检测

取冰冻肾组织, 提取RNA, 逆转录为cDNA,

以β-actin为内参, 检测UCP2、Nrf2、PGC-1α的mRNA表达水平。各基因引物序列信息见表1。

表1 基因引物序列

Tab 1 Genetic sequence

基因	引物序列 (5' -3')	碱基数/bp	基因号
UCP2	F: CAAGACCATTGCACGAGAGGA	139	NM_019354.3
	R: GAGGTTGGCTTTCAGGAGAGTAT		
Nrf2	F: TTGGCAGAGACATTCCCATTGTGA	116	NM_031789.3
	R: GAGCTATCGAGTGACTGAGCCTG		
PGC-1α	F: GCACTGACAGATGGAGACGTGA	149	NM_031347.1
	R: TCATTGTAGCTGAGCTGAGTGTGG		
β-actin	F: GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA	150	NM_031144.3
	R: GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG		

1.3.9 免疫组织化学染色

将牙龈组织从大鼠上颌骨上剥下, 经固定、脱水和包埋后制备成5 μm厚的牙龈组织切片。将牙龈组织和肾组织石蜡切片梯度脱蜡后, 置于0.01 mol/L柠檬酸钠缓冲液中, 微波加热5 min进行抗原修复, 随后滴加稀释过的UCP2、Nrf2、PGC-1α一抗液, 4℃孵育过夜, 之后滴加二抗液, 并进行DAB显色, 使用苏木素复染细胞核后, 进行梯度脱水, 最后使用树胶封片。

1.4 统计分析

采用SPSS 26.0软件进行统计学分析, 样本量n=3, 以均数±标准差表示计量资料, t检验分析组

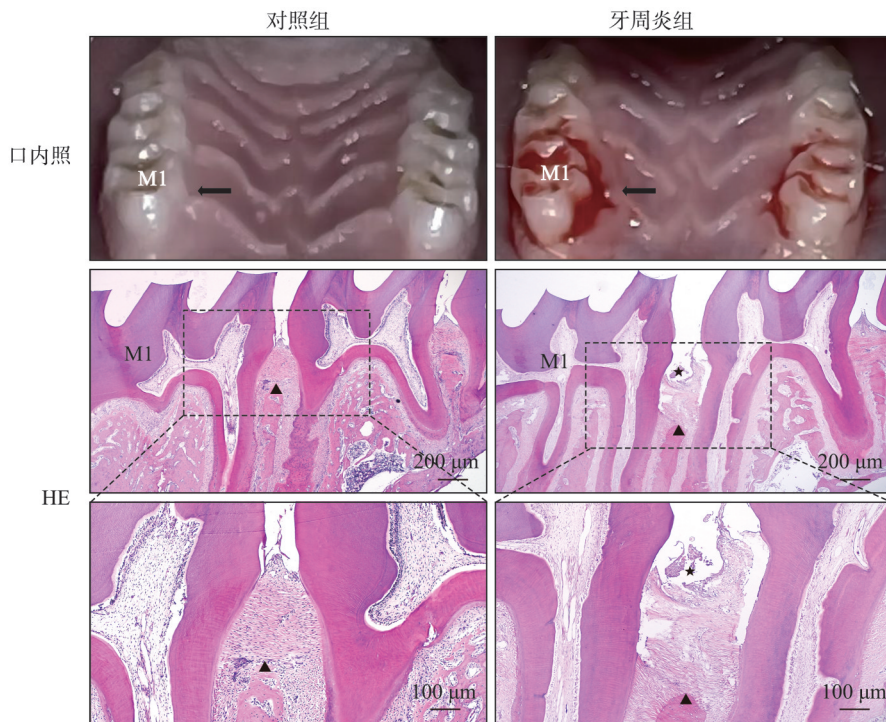
间差异。

2 结果

2.1 成功构建大鼠牙周炎模型

2.1.1 肉眼观

大鼠口内照见图1。对照组大鼠上颌第一磨牙周围的牙龈呈健康的粉红色, 形态菲薄且紧贴在牙面上, 质地坚韧, 富有弹性; 而牙周炎组大鼠上颌第一磨牙周围的牙龈呈鲜红色伴有明显肿胀, 质地松软且极易出血。



M1: 大鼠上颌第一磨牙; 黑色箭头: 牙龈组织; 黑色三角形: 牙槽嵴顶; 黑色五角星: 牙周袋。

图1 大鼠口内照及牙周组织HE染色

Fig 1 Intraoral photographs and HE staining of periodontal tissue of rats

2.1.2 牙周临床检查

大鼠的牙周临床检查见表2，对照组大鼠无牙周袋、无附着丧失，探诊后牙龈不出血，牙齿无松动；牙周炎组大鼠有明显附着丧失和牙周袋，探诊出血，牙齿松动。

表 2 大鼠的牙周临床检查

Tab 2 Periodontal clinical examination of rats

牙周临床指标	对照组	牙周炎组
PD/mm	0.21±0.06	2.43±0.29***
BI	0.00±0.00	2.33±0.76**
TM	0.00±0.00	1.17±0.29**

注：与对照组相比，** $P<0.01$ ，*** $P<0.001$ 。

2.1.3 病理表现

大鼠牙周组织HE染色见图1。与对照组比较，牙周炎组大鼠上颌第一磨牙牙周袋形成，周围牙槽骨

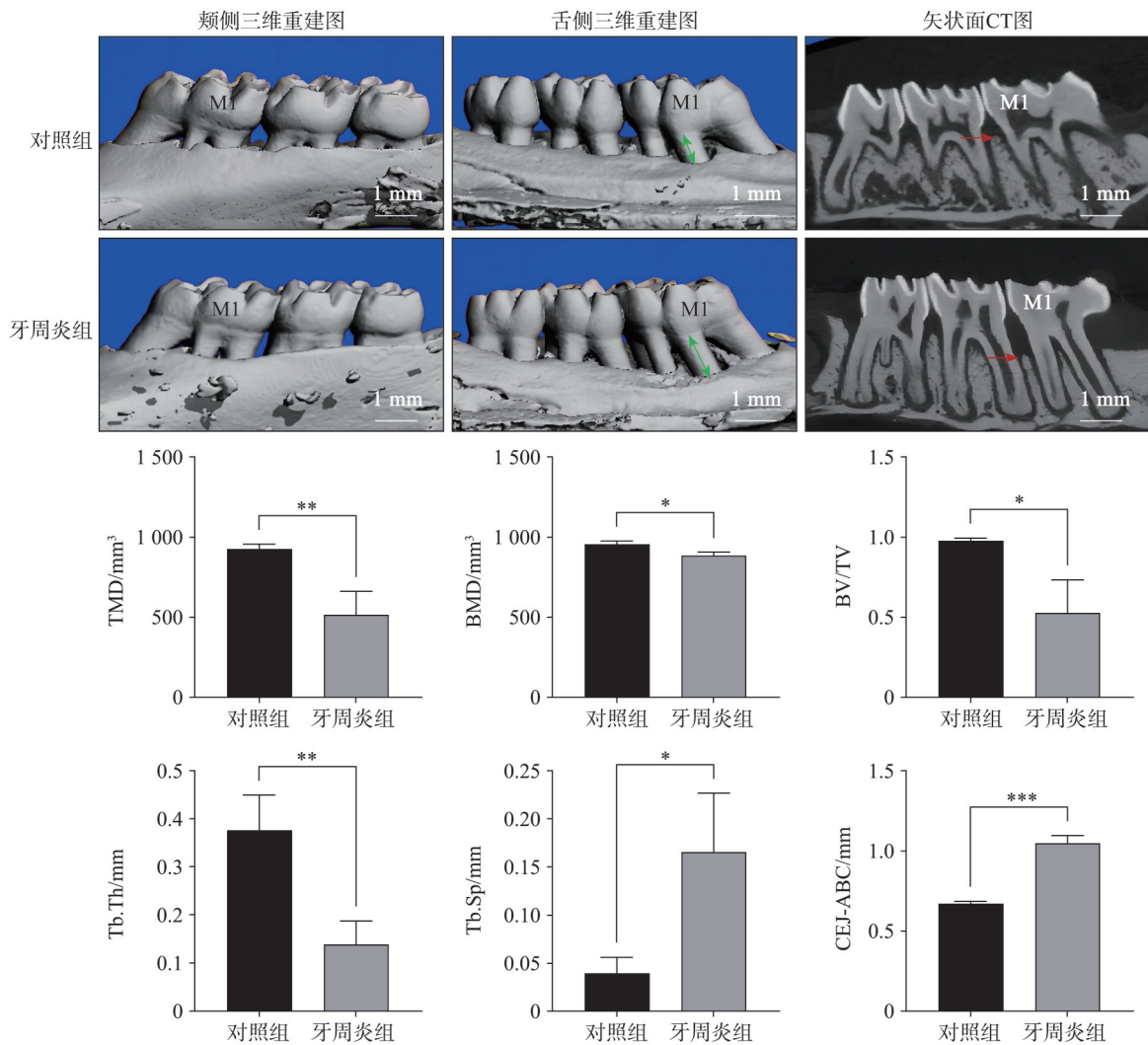
吸收。

2.1.4 Micro CT结果

大鼠上颌骨Micro CT三维重建图及骨生物学参数见图2。Micro CT三维重建图显示，与对照组相比，牙周炎组大鼠上颌第一磨牙牙颈部周围牙槽骨吸收。骨生物学参数分析显示，与对照组相比，牙周炎组TMD、BMD、BV/TV、Tb.Th指数降低，Tb.Sp指数、CEJ-ABC增加，差异具有统计学意义。

2.2 大鼠牙龈UCP2蛋白表达

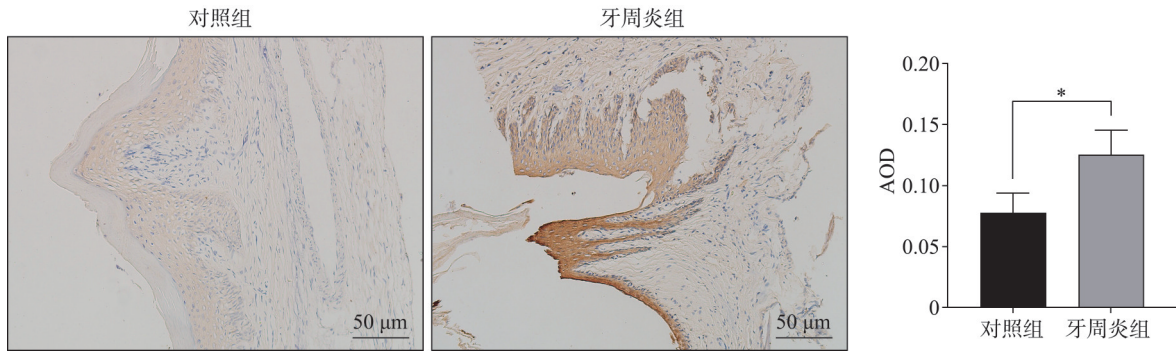
大鼠牙龈UCP2免疫组织化学染色及蛋白定量分析结果见图3。UCP2阳性结果呈现出棕黄色。与对照组相比，牙周炎组大鼠牙龈UCP2蛋白表达升高，2组间的差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。



上：Micro CT三维重建图，M1为大鼠上颌第一磨牙，绿色双箭头为CEJ-ABC，红色箭头为牙槽嵴顶。下：骨生物学参数分析柱状图，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ，*** $P<0.001$ 。

图 2 大鼠上颌骨Micro CT三维重建图及骨生物学参数

Fig 2 Three-dimensional reconstruction of rat maxilla with Micro CT and bone biological parameters



左: 免疫组织化学染色; 右: 蛋白定量分析, *P<0.05。

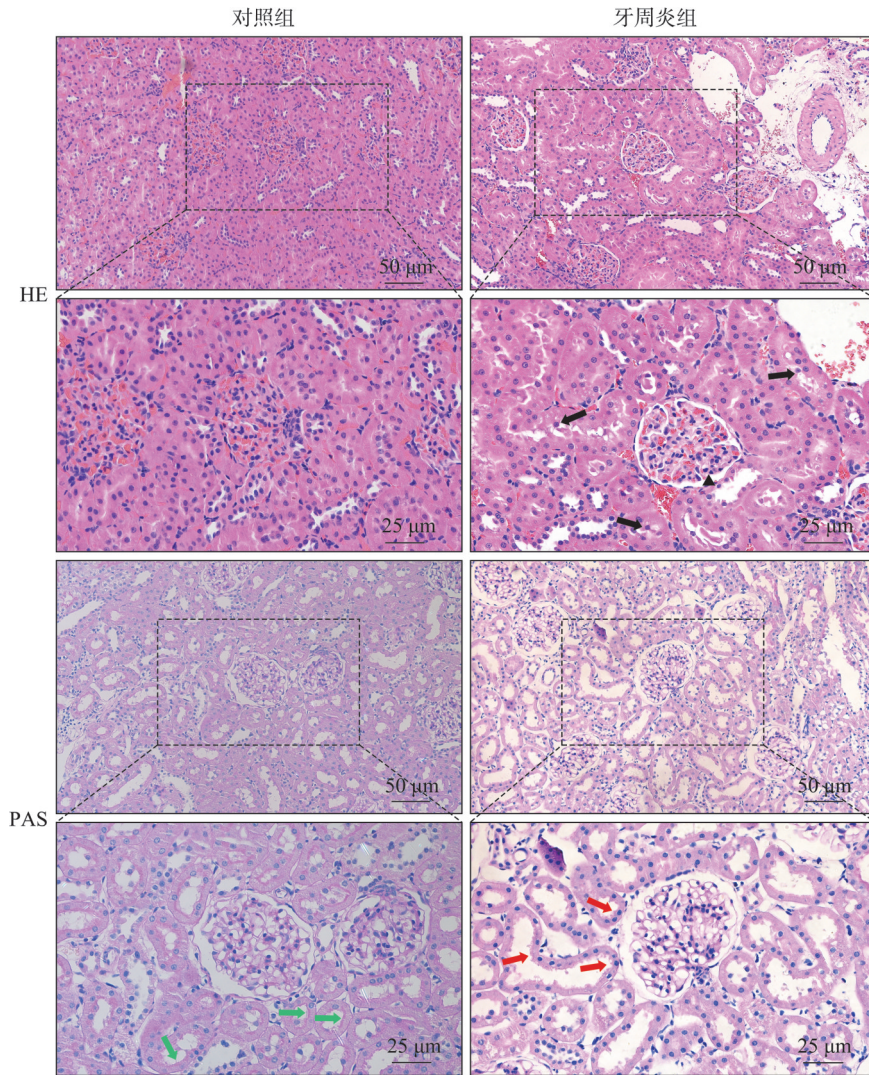
图 3 大鼠牙龈UCP2免疫组织化学染色及蛋白定量分析

Fig 3 Immunohistochemical staining and quantitative analysis of UCP2 protein in rat gingival

2.3 大鼠肾组织的病理形态学表现

大鼠肾组织的病理形态学表现见图4。HE染色结果显示,与对照组相比,牙周炎组大鼠的肾

小球囊间隙增大,可见肾小管上皮细胞脱落。PAS染色结果显示,对照组大鼠肾小管刷状缘整齐,牙周炎组大鼠肾小管刷状缘被破坏呈毛刺状。



黑色三角形: 牙周炎组肾小球囊间隙增大; 黑色箭头: 牙周炎组肾小管上皮细胞脱落; 绿色箭头: 对照组肾小管刷状缘整齐; 红色箭头: 牙周炎组肾小管刷状缘断裂呈毛刺状。

图 4 大鼠肾组织病理形态学表现

Fig 4 Pathomorphology of kidney tissue of rats

2.4 肾脏功能检测结果

大鼠肾脏功能指标检测结果见表3。与对照组相比，牙周炎组大鼠肾脏功能指标BUN、Cre、Alb有升高趋势，但2组间的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 3 大鼠肾脏功能指标

Tab 3 Kidney function indices of rats

肾脏功能指标	对照组	牙周炎组
BUN/ (mmol/L)	6.04±1.86	6.07±0.48
Cre/ (μmol/L)	25.55±7.94	26.43±3.28
Alb/ (g/L)	19.90±1.70	20.89±2.63

2.5 肾组织氧化应激标志物

大鼠肾组织氧化应激水平见表4。与对照组相比，牙周炎组MDA水平升高，GSH、SOD水平降

低，2组间的差异具有统计学意义。

表 4 大鼠肾组织氧化应激水平

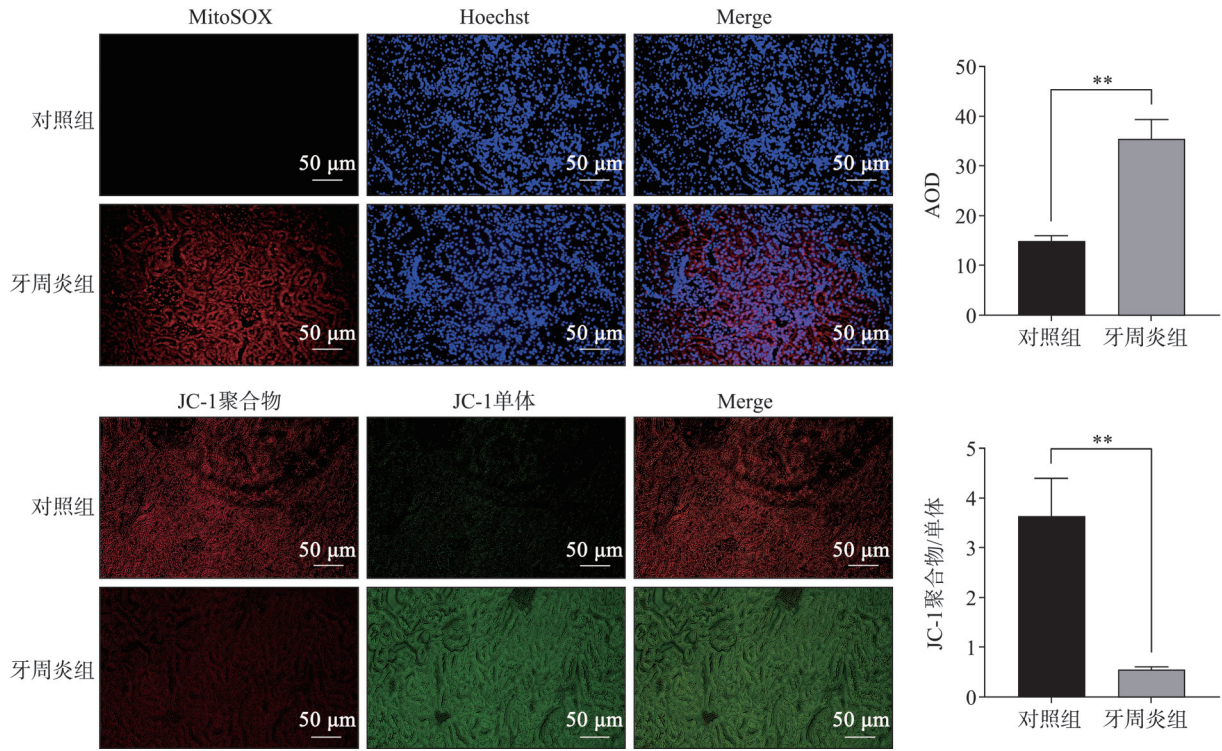
Tab 4 Levels of oxidative stress in kidney tissue of rats

功能指标	对照组	牙周炎组
MDA/ (nmol/mgprot)	3.17±0.23	4.62±0.12***
GSH/ (μmol/gprot)	33.97±1.58	24.19±3.47*
SOD/ (U/mgprot)	74.00±4.79	59.84±7.03*

注：与对照组相比，* $P<0.05$ ，*** $P<0.001$ 。

2.6 肾组织 MitoSOX red 及 JC-1 染色结果

大鼠肾组织 MitoSOX red 及 JC-1 染色结果见图5，结果显示，与对照组相比，牙周炎组红色荧光强度 (ROS) 增强，线粒体膜电位降低。MitoSOX 和 JC-1 平均荧光强度半定量分析结果表明，2组间的差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。



上：MitoSOX red 染色，在 MitoSOX 荧光染料的作用下，肾组织细胞内 ROS 呈红色荧光；Hoechst 荧光染料标记肾组织细胞核，呈蓝色荧光；Merge 为两荧光合并结果，显示肾细胞内 ROS 与细胞核的共定位情况。下：JC-1 染色，线粒体膜电位较高时，JC-1 聚集在线粒体基质中，形成聚合物，产生红色荧光；线粒体膜电位较低时，JC-1 不能聚集在线粒体基质中，JC-1 为单体，产生绿色荧光。JC-1 聚合物/单体 (红色/绿色荧光强度) 的比值表示线粒体膜电位水平。*** $P<0.01$ 。

图 5 大鼠肾组织 MitoSOX red 染色及 JC-1 染色

Fig 5 MitoSOX red and JC-1 staining of kidney tissue of rats

2.7 肾组织 qRT-PCR 检测结果

qRT-PCR 检测结果见图6。与对照组相比，牙周炎组大鼠肾组织中 UCP2 基因表达增加，Nrf2、PGC-1α 基因表达下降，2组间的差异具有统计学意义。

2.8 肾组织免疫组织化学染色结果

免疫组织化学染色见图7。阳性结果呈棕黄色，主要集中在肾小管上皮细胞区域。与对照组相比，牙周炎组 UCP2 蛋白表达升高，Nrf2、PGC-1α 蛋白表达降低，2组间的差异具有统计学意义。

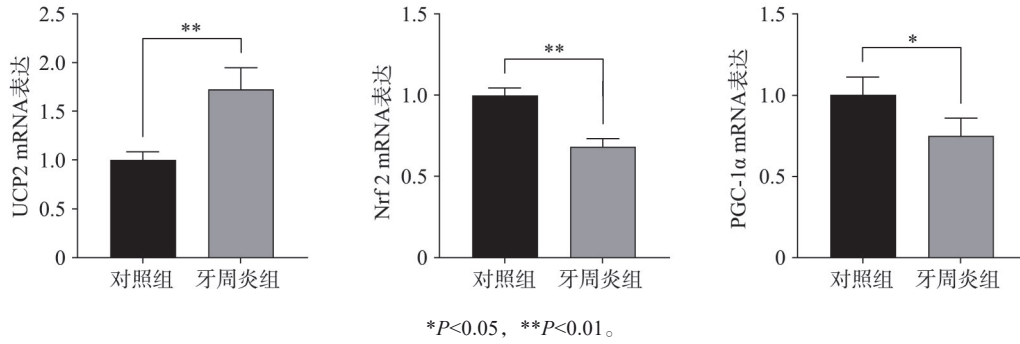
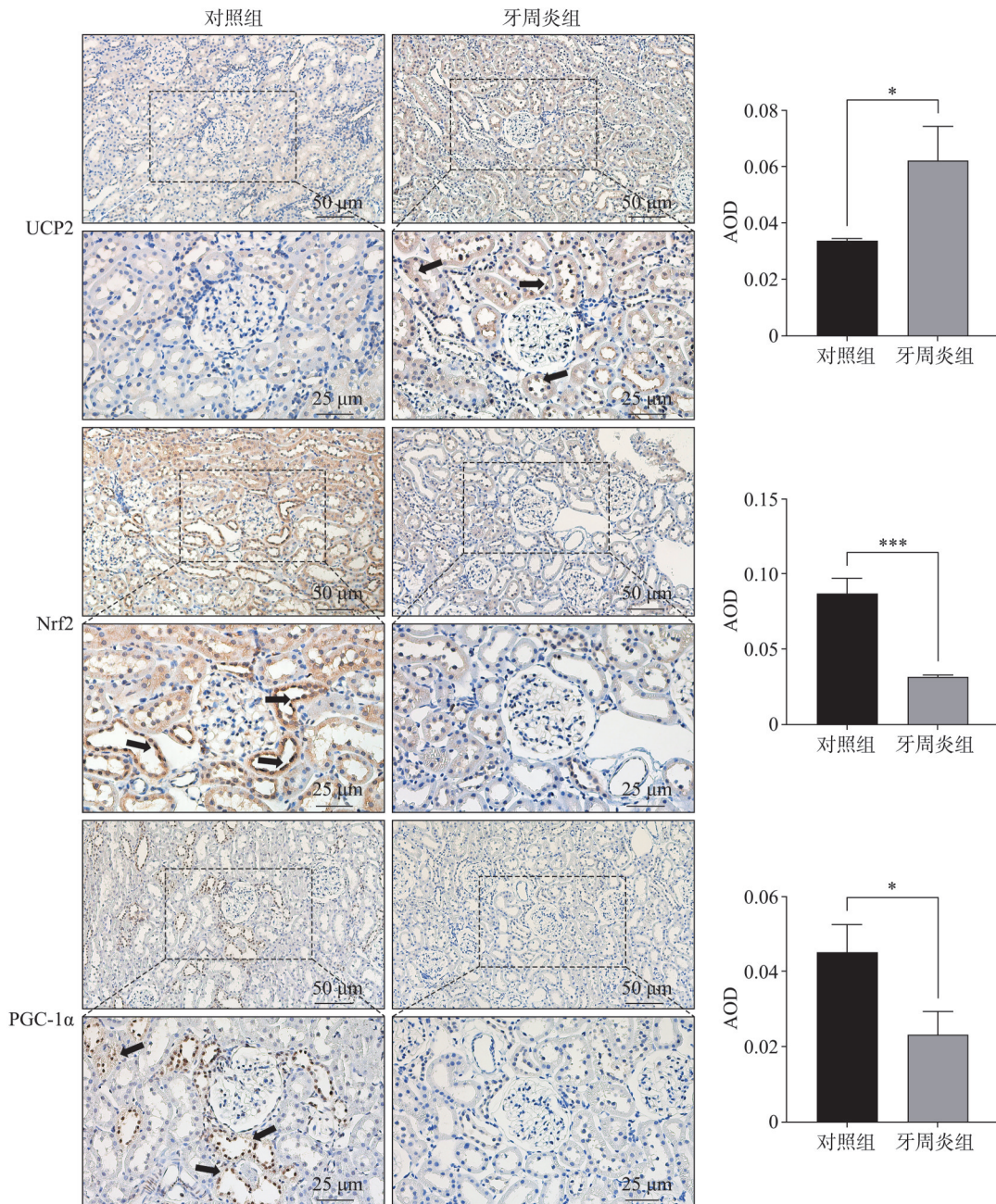


图 6 qRT-PCR 检测结果

Fig 6 qRT-PCR test results



左: 免疫组织化学染色, 黑色箭头示蛋白表达阳性呈棕黄色; 右: 蛋白表达定量分析, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ 。

图 7 大鼠肾组织免疫组织化学染色及蛋白表达定量分析

Fig 7 Immunohistochemical staining and quantitative analysis of protein expression in rat kidney

3 讨论

牙周炎时 ROS 积累增加,破坏了机体内氧化剂和抗氧化剂之间的平衡,导致氧化应激的发生。这不仅损害了牙周组织,还影响了全身疾病的发生发展^[6]。牙周炎与 CKD 有许多共同的危险因素,包括吸烟、肥胖和年龄等^[17]。研究^[18]表明,牙周炎和 CKD 之间有很强的关联性,牙周炎引起的氧化应激会对肾脏组织产生不良的影响。已有研究^[13-15]报道,实验性牙周炎可引起大鼠肾脏组织病理学改变,如组织形态改变、肾脏氧化应激相关指标水平增加等。本实验成功构建了实验性牙周炎诱导的肾脏损伤模型,与上述研究结果一致,肾脏组织也出现了不可逆的损伤。另外本实验对 2 组大鼠肾脏组织进行了 MitoSOX Red 染色以判断组织内的 ROS 水平,结果显示牙周炎组红色荧光强度增强,表明肾脏组织内 ROS 增多;同时对 2 组大鼠肾脏组织进行 JC-1 染色来判断组织内线粒体膜电位情况,结果显示牙周炎组大鼠组织内的 JC-1 大多以单体形式存在难以形成聚合物,表明牙周炎组线粒体膜电位水平降低;以上荧光实验结果都表明实验性牙周炎使肾脏氧化应激增强。然而值得注意的是,即便实验性牙周炎导致肾脏组织结构变化及氧化应激增强,但是与对照组相比,牙周炎组的大鼠肾脏功能指标 BUN、Cre、Alb 仅呈上升趋势,差异并无统计学意义。这可能与本实验时间跨度较短有关,今后尚需要进一步研究加以证明。

UCP2 是线粒体解偶联蛋白家族的一员,在多种组织中均有表达。UCP2 可部分地消散线粒体中的电化学梯度,致使质子转移过程中电子传输解偶联,降低线粒体产生 ROS 的驱动力,从而使 ROS 产生减少^[19]。Nrf2 是一种转录因子,可通过上调抗氧化剂编码基因的表达,在机体维持正常的氧化还原过程中扮演着核心角色^[20]。PGC-1 α 是线粒体生物发生所必需的核心因子^[21]。Yan 等^[22]研究发现,在牙周炎患者浸润牙周组织的 M1 巨噬细胞中,UCP2 表达上调。本实验研究也发现 UCP2 在实验性牙周炎大鼠牙龈组织中表达增强。研究^[10,23]表明,低氧体外诱导肾小管上皮细胞会出现 UCP2 蛋白上调,在体内缺血再灌注导致的小鼠肾脏损伤模型中 Nrf2 蛋白表达下降,同时 UCP2 蛋白表达与肾脏组织损伤严重程度成正比关系。此外,在 UCP2 缺失的近端肾小管上皮细胞中,缺氧诱导的线粒体分裂现象更加严重,UCP2 缺陷小鼠缺血再

灌注诱导产生的肾损伤也更加严重,然而通过基因改造或药物治疗增加 UCP2 基因及蛋白的表达,则可减少线粒体破碎,改善肾功能,降低肾小管损伤程度^[10]。多项研究^[24-26]也表明,各种原因诱导的动物肾脏损伤模型中的肾组织均出现了 ROS 升高、UCP2 蛋白表达增加的情况。因此 UCP2 对肾脏损伤具有一定的保护作用。Li 等^[14]的研究也发现,在牙周炎诱导的大鼠肾脏损伤模型中 PGC-1 α 的基因及蛋白表达均呈下降趋势。本研究发现,与对照组相比,实验性牙周炎大鼠肾脏组织的 UCP2 基因及蛋白表达升高,而 Nrf2 及 PGC-1 α 的基因及蛋白表达下降。这可能是由于牙周炎导致肾脏组织内氧化应激增强,从而降低了 Nrf2 及 PGC-1 α 的表达,机体内氧化与抗氧化系统之间的平衡被破坏,线粒体发生损伤,致使肾脏组织内 ROS 增多,进一步刺激了 UCP2 表达增强来减少 ROS 的产生,从而对肾脏组织起到一定的保护作用。综上所述,UCP2 可通过调控机体的氧化应激水平在牙周炎相关肾损伤中发挥至关重要的作用。

本实验探究了氧化应激关键蛋白 UCP2 在实验性牙周炎相关肾损伤中的作用,然而氧化应激机制复杂,涉及多种蛋白调控,今后仍需进一步探索 UCP2 在牙周炎相关肾损伤中调控的具体机制。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] Yamaguchi T, Yamamoto Y, Egashira K, et al. Oxidative stress inhibits endotoxin tolerance and may affect periodontitis[J]. J Dent Res, 2023, 102(3): 331-339.
- [2] Chen MX, Zhong YJ, Dong QQ, et al. Global, regional, and national burden of severe periodontitis, 1990-2019: an analysis of the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. J Clin Periodontol, 2021, 48(9): 1165-1188.
- [3] Liu S, Butler CA, Ayton S, et al. *Porphyromonas gingivalis* and the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. Crit Rev Microbiol, 2024, 50(2): 127-137.
- [4] Mahendra J, Palathingal P, Mahendra L, et al. Impact of red complex bacteria and TNF- α levels on the diabetic and renal status of chronic kidney disease patients in the presence and absence of periodontitis[J]. Biology (Basel), 2022, 11(3): 451.
- [5] Bitencourt FV, Nascimento GG, Costa SA, et al. Co-occurrence of periodontitis and diabetes-related complications[J]. J Dent Res, 2023, 102(10): 1088-1097.

- [6] Irwandi RA, Chiesa ST, Hajishengallis G, et al. The roles of neutrophils linking periodontitis and atherosclerotic cardiovascular diseases[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 915081.
- [7] Dannewitz B, Sommerer C, Stölzel P, et al. Status of periodontal health in German patients suffering from chronic kidney disease—Data from the GCKD study[J]. *J Clin Periodontol*, 2020, 47(1): 19-29.
- [8] Rotariu D, Babes EE, Tit DM, et al. Oxidative stress—Complex pathological issues concerning the hallmark of cardiovascular and metabolic disorders[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 152: 113238.
- [9] Hirschenson J, Melgar-Bermudez E, Mailloux RJ. The uncoupling proteins: a systematic review on the mechanism used in the prevention of oxidative stress[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(2): 322.
- [10] Qin N, Cai T, Ke Q, et al. UCP2-dependent improvement of mitochondrial dynamics protects against acute kidney injury[J]. *J Pathol*, 2019, 247(3): 392-405.
- [11] Forte M, Bianchi F, Cotugno M, et al. An interplay between UCP2 and ROS protects cells from high-salt-induced injury through autophagy stimulation[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(10): 919.
- [12] 曹牛奔, 刘笑梦, 邓愉, 等. 活性氧/c-Jun 氨基末端激酶/核因子- κ B 信号分子通过调控凋亡参与牙周炎诱导肝损伤[J]. *华西口腔医学杂志*, 2022, 40(5): 532-540.
Cao NB, Liu XM, Deng Y, et al. Reactive oxygen species/c-Jun N-terminal kinase/nuclear factor kappa-B signaling molecules are involved in periodontitis-induced liver injury by regulating apoptosis[J]. *West China J Stomatol*, 2022, 40(5): 532-540.
- [13] 丁旭, 李鑫, 刘歆婵, 等. 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白在牙周炎大鼠相关肾损伤中的作用[J]. *口腔医学*, 2022, 42(5): 420-424.
Ding X, Li X, Liu XC, et al. Role of mammalian target of rapamycin in renal injury associated with periodontitis in rats[J]. *Stomatology*, 2022, 42(5): 420-424.
- [14] Li X, Liu XC, Ding X, et al. Resveratrol protects renal damages induced by periodontitis via preventing mitochondrial dysfunction in rats[J]. *Oral Dis*, 2023, 29(4): 1812-1825.
- [15] 李鑫, 丁旭, 刘笑梦, 等. 沉默信息调节因子1对慢性牙周炎模型大鼠肾损伤的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2022, 48(5): 1200-1208.
Li X, Ding X, Liu XM, et al. Effect of silencing informa-
- tion regulator 1 on kidney injury in chronic periodontitis model rats[J]. *J Jilin Univ (Med Ed)*, 2022, 48(5): 1200-1208.
- [16] Shang J, Liu H, Zheng Y, et al. Role of oxidative stress in the relationship between periodontitis and systemic diseases[J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1210449.
- [17] Li L, Zhang YL, Liu XY, et al. Periodontitis exacerbates and promotes the progression of chronic kidney disease through oral flora, cytokines, and oxidative stress[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 656372.
- [18] Palathingal P, Mahendra J, Annamalai PT, et al. A cross-sectional study of serum glutathione peroxidase: an antioxidative marker in chronic periodontitis and chronic kidney disease[J]. *Cureus*, 2022, 14(2): e22016.
- [19] Hass DT, Barnstable CJ. Uncoupling proteins in the mitochondrial defense against oxidative stress[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2021, 83: 100941.
- [20] Lin DW, Hsu YC, Chang CC, et al. Insights into the molecular mechanisms of NRF2 in kidney injury and diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6053.
- [21] Wang H, Wang X, Ma L, et al. PGC-1 alpha regulates mitochondrial biogenesis to ameliorate hypoxia-inhibited cementoblast mineralization[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2022, 1516(1): 300-311.
- [22] Yan X, Yuan Z, Bian Y, et al. Uncoupling protein-2 regulates M1 macrophage infiltration of gingiva with periodontitis[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2020, 45(1): 9-21.
- [23] Huang YB, Jiang L, Liu XQ, et al. Melatonin alleviates acute kidney injury by inhibiting NRF2/Slc7a11 axis-mediated ferroptosis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 4776243.
- [24] Sharkey D, Gardner DS, Symonds ME, et al. Maternal nutrient restriction during early fetal kidney development attenuates the renal innate inflammatory response in obese young adult offspring[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 297(5): F1199-F1207.
- [25] Ding Y, Zheng Y, Huang J, et al. UCP2 ameliorates mitochondrial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in lipopolysaccharide-induced acute kidney injury[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 71: 336-349.
- [26] Ke Q, Yuan Q, Qin N, et al. UCP2-induced hypoxia promotes lipid accumulation and tubulointerstitial fibrosis during ischemic kidney injury[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(1): 26.